

A szérum albumin regeneratív hatásai a támasztó és mozgató szervrendszerben

Doktori tézisek

Dr. Horváthy Dénes Balázs

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Lacza Zsombor, DSc., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Mester Sándor, Ph.D., főorvos
Dr. Holnapy Gergely, Ph.D., egyetemi tanársegéd

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szőke György, DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Bejek Zoltán, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Kádas István, Ph.D., főorvos

Budapest
2017

1. Bevezetés

Prométheusz mítosza révén a regenerációs medicina már a görög mitológiában is megjelenik. Zeusz büntetésből a Kaukázus hegyére vitte a halhatatlan Prométheuszt, és egy sziklához kötözte. Minden nap egy sas marcangolta a máját, ami másnapra visszanőtt. A mitológiai történet a regenerációs medicina két fontos aspektusát is megjeleníti, az egyik a halhatatlanság tulajdonsága, a másik pedig a szövet funkcionális gyógyulása. A halhatatlanság az őssejtpopulációk azon tulajdonságában nyilvánul meg, hogy azonos leánysejtek létrehozásával véget nem érően képesek megújítani önmagukat. A szövet funkcionális gyógyítása pedig a regeneratív medicina fő célja, és szintén őssejtfunkcióhoz köthető, hiszen a leánysejtek differenciálódásuk révén pótolhatják az elvesztett sejteket, szöveteket, szerveket, visszaállítva a hiányzó funkciókat is. A legtöbb emberi szövet azonban sérülésre hegesedéssel válaszol. A hegyszövet egy erős struktúra, mely visszaállítja a szövetfolytonosságot, de a szövet eredeti fiziológiai funkcionalitását elvesztheti. Ezzel szemben a beteg számára a legoptimálisabb az lenne, ha a sérült szövetet, vagy szervet funkcionálisan ekvivalens struktúrával pótolnánk. A regeneratív medicina térnyerését segíti az is, hogy növekvő igény mutatkozik a laboratóriumban kidolgozott technikák mielőbbi klinikai felhasználására (transzláció), valamint a személyre szabott terápiákra. Ennek eléréséhez pedig elengedhetetlen a szövetek normális gyógyulásának ismerete, a potenciális őssejt populációk, növekedési faktorok felderítése, valamint megfelelő háromdimenziós vázszerkezetek, bioanyagok létrehozása.

Sérülést követően a szövetekben egy komplex folyamat indul be, amit összességében gyógyulásnak nevezünk. A legtöbb szövet sérülésre először egy gyulladásos válasszal reagál, amit a progenitor sejtek lokális felszaporodása követ. Ezt követően indul meg a jelen lévő sejtek részvételével a remodeláció, vagyis szöveti átépülés fázisa. Utóbbi során igyekszik a szervezet a szöveti funkcionalitást helyreállítani, azonban ez korántsem tökéletes minden esetben. A szöveti funkcionalitás helyreállítása tesz különbséget a gyógyulás két lehetséges kimenetele között. Míg reparáció során a szöveti folytonosság és hiány hegyszövet kialakításával áll helyre, addig regenerációt követően funkcionálisan értékes szövet jön létre. A regenerációs medicina célja, hogy sérülés után a szövet funkciója minél tökéletesebben, és a lehető legrövidebb időn belül helyreálljon, amit a sérülésre adott fiziológiás folyamatok támogatásával igyekszik elérni. A gyulladásos fázist követően számos növekedési faktor irányítja a gyógyulás további folyamatait. A regeneratív technikák egyik alappillére emiatt a növekedési faktorok használata, hiszen a megfelelő növekedési faktor lokális alkalmazása

gyorsabb és teljesebb gyógyulást tehet lehetővé. A növekedési faktorok, természetesen, alkalmazhatóak kombinációkban is, ennek legközkedveltebb irányvonala a saját vérből nyert növekedési faktorokban rendkívül gazdag vérfrakciók használata, melyek részletezésére egy későbbi fejezetben kerül sor.

A regenerációs medicina másik alappillére az őssejtek alkalmazása, illetve a különféle sejterápiás lehetőségek. Az őssejtek alkalmazásával lehetőség nyílik nagyméretű szövethiányok funkcionális pótlására is, melyeket az in vitro szövetépítési módszerek segítenek. A szövetpótláshoz, és in vitro szövetépítéshez pedig elengedhetetlen, hogy megfelelő vázszerkezeteket és hordozóanyagokat alkalmazzunk, melyek ugyanakkor a regeneratív medicina harmadik alappillére képezik. A növekedési faktorok klinikai alkalmazása, érthető módon, megelőzi a sejtes terápiák használatát, és mind a mai napig jelentős részét képezi a regeneratív medicina klinikai alkalmazási területeinek. A klinikai gyakorlat kedvelt adjuvánsai a vérfrakciók is, melyek segítségével a szervezet saját növekedési faktora juttathatók koncentráltan a sérülés helyére. A sejtranszplantációs metodikák fejlődése a széles körben alkalmazott csontvelőtranszplatáció miatt indult be. A technika sikerét a csontvelői multipotens sejtek kiváló proliferációs képességének köszönheti, valamint annak, hogy ezek a sejtek képesek a keringésbe kerülést követően újra belépni a csontvelői közegbe. A multipotens sejtek ex vivo expanziójára és differenciációjára is lehetőség van, így terjedtek el például a keratinociták és kondrociták bejuttatása által kedvezőbb gyógyulás reményét hozó technikák. Az őssejtek pozitív terápiás hatásai a támasztó és mozgató szervrendszer területén is jelentős eredményeket mutatnak, ugyanakkor a klinikai gyakorlat jelenleg még inkább a növekedési faktorok, vérfrakciók adjuváns lehetőségeit alkalmazza. Ettől függetlenül a sejterápiás kérdések ígéretesek, aktualitásukat mutatja, hogy Evans 2007-ben, többek között, az embrionális őssejtek felfedezéséért, Gurdon és Yamanaka pedig 2012-ben az indukált pluripotens sejtek ismertetéséért kapott orvosi Nobel-díjat. Habár a sejterápia széleskörű elterjedésig még várni kell, a klinikai gyakorlatban, így a támasztó és mozgató szervrendszer sérüléseinél is, nap mint nap szükséges a szövetek funkcionális helyreállítása. Jelen munka erre alapszik. Egyfelől belekóstol az őssejterápia izgalmas útvesztőibe, másrészt biztonságos, áthidaló megoldást keres a szövetműködés helyreállítására.

2. Célkitűzések

Az albumin molekula funkciói és az élettani folyamatokban betöltött szerepe jól ismert. A biotechnológia területén és a regeneratív medicinában azonban csupán az utóbbi időkben került vizsgálat alá. Bebizonyosodott, hogy segíti a *in vitro* sejt kultúrák fenntarthatóságát, javítja a fagyasztott sejtek túlélését, illetve használható az *in vitro* fertilizációs folyamatokban is. Transzport molekulaként számos ismert anyag szállításában vesz részt, így gyógyszerek beviteléhez is használható, melyek irányított leadását teszi lehetővé. Az albumin, bevonatként csökkenti a prokarióta sejtek kolonizációját, ami számos biotechnológiai vonatkozásban hasznos lehet. A molekula őssejtek proliferációját és kitapadását elősegítő tulajdonsága rendkívül hasznos, amit *in vitro* szövetépítési stratégiák, vagy sejtttranszplantációs technikák kialakítására használhatunk fel. Ezenkívül az albuminnak csontregenerációt elősegítő, aktív szerepe is felmerül, azonban ennek terápiás alkalmazhatóságát ezidáig csak kutatócsoportunk vizsgálta. Munkám során a következő kérdésekre kerestem a választ:

1. Képes-e a szérumban albumin fokozni a mezenhimális őssejtek kitapadását olyan különböző, eddig még nem vizsgált anyagok felületén, mint a demineralizált csontmátrix, illetve a poliglikolsav alapú felszívódó varróanyagok?
2. Alkalmass-e az őssejtekkel bevont albuminos varróanyag arra, hogy átmeneti hordozóként sejteket juttasson a sérült szövetekbe?
3. Javítja-e a szérumban albumin bevonatú demineralizált csontmátrix kritikus méretű csontdefektusok gyógyulását, az újcsontképződés és a mechanikai funkció terén?

3. Módszerek

3.1. A kísérletekhez használt állatok

A kísérletek során 250-300 gramm tömegű hím Wistar patkányokat használtunk. Az állatok a Semmelweis Egyetem Elméleti Orvostudományi Tömb állatházában tartózkodtak, ahol 12 órás nap/éj váltakozást biztosító rendszer, ad libitum tápanyag és víz állt a rendelkezésükre.

3.2. A kísérletekhez használt mezenhimális őssejtek

A patkány csontvelő eredetű sejteket, az állatok feláldozását követően a femur és tibia csontokból nyertük. A humán csontvelő eredetű sejtek tenyésztéséhez a csontvelőt a Semmelweis Egyetem Ortopédiai Klinikáról kaptuk. A csontvelőt őssejtmédiummal hígítottuk, majd Petri csészékbe osztottuk szét, és tovább tenyésztettük.

3.3. Statisztikai módszerek

Az kísérletek során mért és számolt értékek átlag \pm standard hiba (means \pm SEM) kerültek megjelenítésre. A statisztikai vizsgálatokhoz Graphpad Prism programot használtunk, amivel t-test-et, egyutas és kétutas ANOVA vizsgálatokat, valamint Bonferroni és Dunett post hoc tesztekert hajtottunk végre. A szignifikancia szinteket $p < 0.05$, $p < 0.01$, és $p < 0.001$ értékeken határoztuk meg.

3.4. A fonalak vizsgálata

Sebészeti varróanyagokat albuminnal, pol-L-lizinnel és fibronectinnel vontuk be, és 6, 12, 24 óra elteltével vizsgáltuk a sejtek kitapadását. A fonalak a sejtes bevonat létrehozása közben különböző hatásoknak lettek kitéve. Sebészeti szempontból fontos, hogy a fonalak gyári minősége ne szenvedjen csorbát, ezért megvizsgáltuk, hogy változik-e a fonalak felszívódása *in vivo* körülmények között, valamint megváltozik-e a szakítószilárdságuk az előkészítést követően.

A sejtes fonál célja, hogy őssejteket juttasson a varróanyaggal egyesített lágy szövetbe. Felmerül, hogy kibírják-e a sejtek a varratkészítésből fakadó mechanikai igénybevételeket, valamint, hogy képesek-e a fonál felületét elhagyva a sérült szövet rétegeibe vándorolni. Mindezt haráncsikolt izom sértését követően vizsgáltuk 48, 168 óra, valamint 5 hét elteltével.

3.5. Mezenhimális őssejtek kitapadása demineralizált csontgraftok felületén

Az irodalmi adatok alapján előállított demineralizált csontmátrixot serum albuminnal vontuk be. A sejtek kitapadását albumin bevontú és bevonat nélküli graftok felületén vizsgáltuk 6, 12, 24 óra elteltével.

3.6. A csontregeneráció vizsgálata

Irodalmi adatok alapján, kritikus méretű csonthiányokat hoztunk létre patkányok parietalis koponya csontján. A létrehozott hiányokat szérum albuminnal bevont s bevonat nélküli demineralizált csontpótlóval töltöttük ki. A kontroll csoportot üresen hagytuk. A csontosodást in vivo számítógépes tomográfiával vizsgáltuk, a műtétet követő 1,3,5,7,9 és 11 héten. A mérések során meghatároztuk a pótolts terület denzitását (HU) és a visszamaradó csonthiány méretét. A 11. hetet követően az állatokat feláldoztuk és microCT valamint mechanikai vizsgálatnak vetettük alá.

4. Eredmények

4.1. Mezenhimális sejtek kitapadása sebészeti varróanyagok felületére

A sejtek kitapadását vizsgálva megállapítottuk, hogy 24 óra elteltével mindegyik fonálon található kitapadt sejt. A bevonó fehérjék között nem volt szignifikáns különbség sem a patkány, sem a humán mezenhimális sejtek esetében. 48 óra elteltével a sejtek száma mindegyik fonálon növekedett, de az albuminnal bevont fonálra szignifikánsan több humán és patkány mezenhimális sejt tapadt, mint a bevonat nélküli. Az 1 hét tenyésztés következtében a sejtek száma tovább emelkedett az albuminnal bevont fonalakon, és nagyrészt beborították a rendelkezésre álló felületet.

4.2. Felszívódás vizsgálata

A felszívódás változásának vizsgálatát az izmokban található fonalmaradványok makroszkópos inspekciójával kezdtük. Világossá vált, hogy míg a kezeletlen és 48 óráig kezelt fonalak még 5 hét után is egyértelműen felismerhetők az izomban, addig a 168 órán át sejttenyésztő médiumban tartott fonalak alig láthatóak. Mikroszkóposan is megvizsgáltuk a visszamaradó fonalak rostszámát és keresztmetszeti átmérőjét. Három héttel a fonalak bevarrását követően nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést egyik paraméterben sem a 48 órás, 168 órás és kezeletlen csoport között. 5 hét elteltével azonban a 168 óráig kezelt fonalak jelentősen alacsonyabb keresztmetszeti átmérővel és rostszámmal mutakoztak. Ezek az értékek a hetedik hétre még kifejezettebbek lettek, míg a 48 órás fonalak nem különböztek szignifikánsan egyik időpontban sem a kontroll fonaltól. Az albumin kezelés egyik időpontban sem befolyásolta a felszívódás dinamikáját.

4.3. Biomechanikai vizsgálat

Az albuminos fagyasztva szárítás és sejtenyészítő oldatban történő inkubáció hatásait a fonalak szakítószilárdságának vizsgálataival végeztük. 48 órás inkubációt követően sem albuminnal, sem bevonat nélkül nem találtunk szignifikáns különbséget a kontroll (kezeletlen) fonalakhoz képest. Ezzel szemben a 168 órás inkubáció 16-19%-kal csökkentette a fonalak szakítószilárdságát. Megvizsgáltuk azt is, hogy változtat-e a szakítószilárdságon, ha sejtet tapasztunk az albuminos fonalakra. Hasonló eredményeket kaptunk, mint sejt kezelés nélkül, vagyis a sejt kezelés 48 óra elteltével nem befolyásolja a szakítószilárdságot, míg a 168 órás tenyésztés szignifikánsan csökkenti a fonalak teherbírását.

4.4. Lágyszöveti őssejttranszplantáció in vivo nyomonkövetése

Kíváncsiak voltunk a transzplantált sejtek in vivo viselkedésére is. 48 órával a beültetést követően azt tapasztaltuk, hogy a sejtek ugyan még nagy számban találhatók a fonalakon illetve közvetlen környezetükben, de jelentős számban vándoroltak mélyebb szöveti rétegekbe. A 168 órás vizsgálat hasonló eredményt hozott. A beültetett sejtek 5 hét elteltével még mindig fellelhetők a sértett terület rétegeiben, habár számuk jelentősen megfogyatkozott.

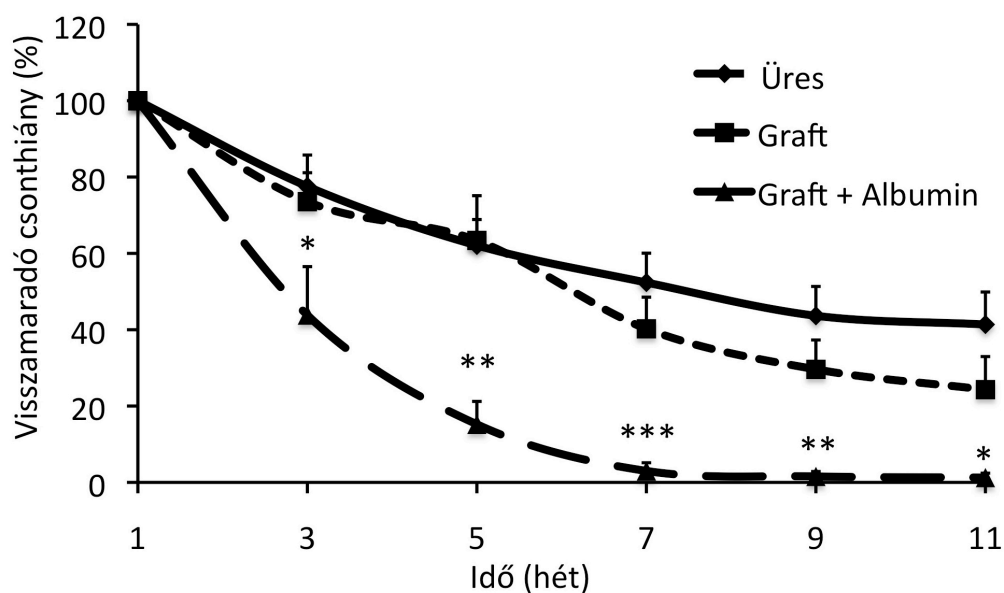
4.5. Mezenhimális őssejtek kitapadása demineralizált csontgraftok felületén

Ebben a kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy képes-e módosítani a szérum albumin bevonat a mezenhimális őssejtek kitapadási és túlélési tendenciáját. A felületre kapcsolódott sejtek számát 6, 12 és 24 óra inkubációt követően vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy 6 óra inkubációt követően a sejtek száma az albuminnal bevont demineralizált csontmátrix felületén duplája a bevonat nélküli felülethez képest. A különbség 12 óra elteltével fokozódott. 24 óra elteltével a bevonat nélküli csoportban további csökkenést nem tapasztaltunk, és az albuminnal bevont felületen sem csökkent szignifikánsan a sejtszám.

4.6. Visszamaradó csonthiány területe - in vivo

A csontgyógyulás folyamatát kéthetente végzett CT-vel vizsgáltuk először. Az első CT felvételek az első posztoperatív héten készültek. Az első posztoperatív héten készített felvételeken nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között. A harmadik posztoperatív héten készített felvételek tanúsága szerint minden kísérleti csoportban megkezdődött a csontosodás, hiszen a csonthiányok mérete csökkent. Az albumin bevonattal kezelt defektusok már ekkor is szignifikánsan kisebb csonthiányt mutattak. Az ötödik posztoperatív hétre az albuminnal kezelt csoport további csökkenést mutatott, míg a másik két csoport még

mindig 60% fölötti értéken állt. A hetedik hétre az albuminnal kezelt csoport csaknem teljesen csonttal fedetté vált, a visszamaradó csonthiány $3.0 \pm 2.3\%$ -os értékével. Ugyanakkor, a másik két vizsgálati csoport jelentős csonthiánnyal rendelkezett.



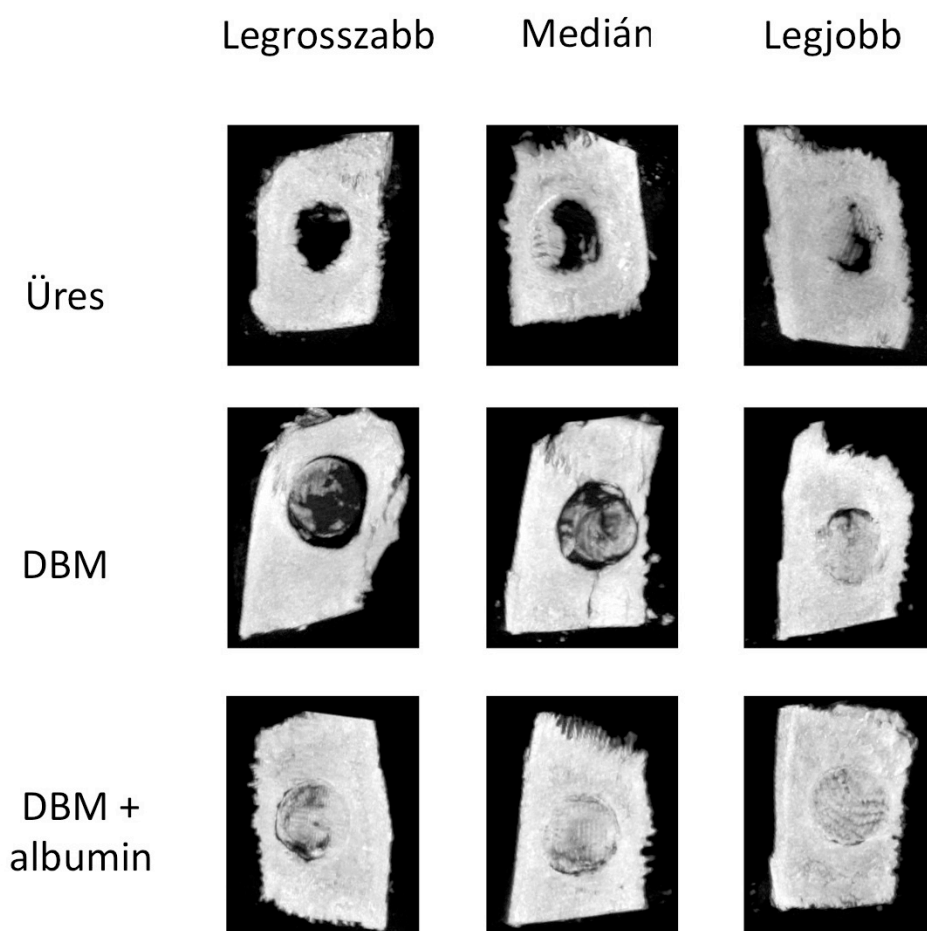
1. ábra. Újcsont képződés vizsgálata a visszamaradó csonthiány időbeni csökkenésével. Az albumin bevonat (DBM + albumin) szignifikánsan gyorsabb újcsont képződést eredményez, a csonthiányok a 7. hétre begyógyulnak. (n=6, kétutas ANOVA, Bonferroni post test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.1$, ***: $p < 0.01$)

4.7. Denzitometria - in vivo

A rekonstrukciós CT felvételekből mérhető volt a csonthiányok denzitása is. Az első héten végzett mérés során egyértelmű csontdefektusokat találtunk. Az első posztoperatív héten a kísérleti csoportok között nem volt jelentős különbség. A harmadik és ötödik héten végzett CT vizsgálat szerint a csontosodás minden kísérleti csoportban megindult, a denzitás értékek növekedtek. Az albumin bevonatú graftokkal kezelt csoport magasabb denzitás értéket produkált, azonban szignifikáns eltérés nem volt kimutatható. A hetedik hétre az albuminnal kezelt csoport és a másik két csoport között szignifikánssá vált a különbség: míg az üresen hagyott csonthiányok 550 ± 69 HU, a bevonat nélküli csonthiányok 582 ± 108 HU értéket vettek fel, addig az albuminnal kezelt csoport 835 ± 64 HU-t mutatott. Ez a folyamat a kísérlet tizenegyedik heti terminációjáig tovább folytatódott.

4.8. Ex vivo microCT

A microCT vizsgálatokat a csontgyógyulás remineralizációs aspektusának jobb felbontású felderítéséért végeztük. A 11 hetes csontregenerációs folyamatot követően az üresen hagyott defektusok $4.2 \pm 2.7\%$ -ot, míg a bevonat nélküli grafftal kezelt defektusok $8.2 \pm 3.2\%$ -ot értek el. Ezek az értékek jelentősen elmaradnak az albuminnal bevont grafftal kezelt hiányok csontképződésétől, hiszen a csontszövet aránya ez utóbbi csoportban $24.1 \pm 2.4 \%$ volt.

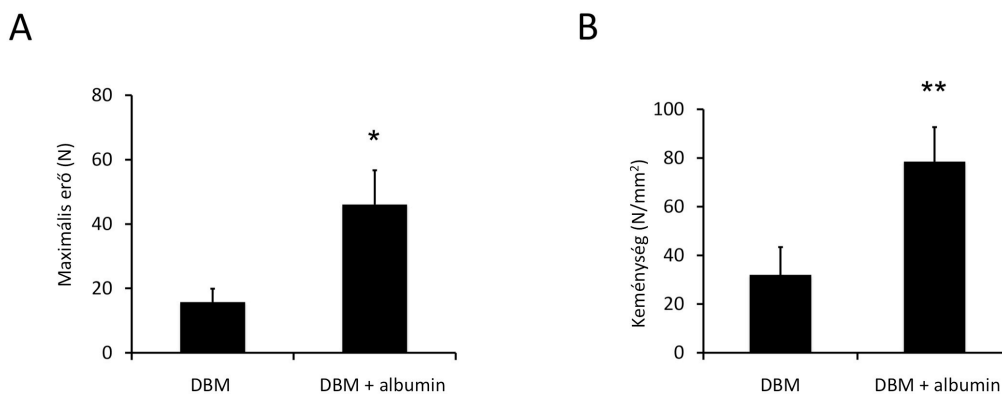


2. ábra. *Ex vivo* MicroCT felvételek 11 hét elteltével. Az ábra reprezentatív képeket mutat be mindegyik vizsgálati csoportból. A legrosszabban, legjobban gyógyuló defektusok mellett, a csoportok medián elemeit is ábrázolja. Az albuminnal bevont csontpótló látványosan kedvezőbb újcsont képződést ért el.

4.9. Biomechanikai vizsgálat

A biomechanikai vizsgálat során arra voltunk kíváncsiak, hogy az újcsont képződés hatására mennyire képes a beültetett csontmátrix az eredeti ép csonttal összekapcsolódni, és mechanikai stabilitást nyújtani. A bevonat nélküli csoportban 15.7 ± 4 N erő kellett ahhoz, hogy a graftot az eredeti csonttal való összeköttetéseiből kimozdítsuk. Az albuminos csontgraftokkal kezelt csoportban azonban jelentősen nagyobb erőre, 46.1 ± 11 N-ra volt szükség. A csont töréséig tartó lineáris terhelés következtében a csontok keménységéről is adatokat nyerhettünk. Ezek szerint a bevont nélküli csontok keménysége 32 ± 11 N/mm² volt,

míg az albuminnal kezelt csoport az előzőnél szignifikánsan keményebbnek bizonyult ($78.6 \pm 14 \text{ N/mm}^2$).



3. ábra. *Ex vivo* mechanikai vizsgálat 11 hét elteltével. Az A panel a maximális törő erőt mutatja be, a B panel a beépült graftok keménységét vizsgálja. Mindkét esetben az albuminos bevonat szignifikánsan magasabb értékeket eredményezett. (n=6, párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$)

5. Következtetések

A kísérletes munkám során a következő eredményekre jutottam:

1. Bebizonyosodott, hogy a mezenhimális őssejtek nagy számban képesek kitapadni különböző szérum albuminnal bevont biokompatibilis anyagokra, így poli-észter sebészeti varróanyagokra és demineralizált csontmátrixra. Az albumin molekula vélhetően fizikokémiai és biológiai hatások által egyaránt kedvező környezetet biztosít a mezenhimális őssejtek kitapadásához, túléléséhez és szaporodásához.
2. Bebizonyosodott az is, hogy az albuminos felület jól funkcionál átmeneti hordozóként, vagyis a szövetbe ültetést követően a sejtek a felületet elhagyva mélyebb rétegekbe vándorolnak, így jelen vannak a regenerálódó szövetben. A sebészeti varróanyagok tehát alkalmasnak bizonyultak arra, hogy koncentráltan, meghatározott lókuszt jutassunk sejteket.
3. Az albumin molekula ezenkívül, feltehetően aktív komponensként, részt vesz a csontregenerációs folyamatokban, hiszen jelentősen javította a demineralizált csontmátrix beépülését, és a csontiány regenerációját kritikus méretű csontdefektusok esetében. Az albumin molekula minden bizonnyal az endogén progenitorok rekrutálásával éri el a

szignifikánsan magasabb mértékű újcsont képződést. A funkcionalitás javulását a mechanikai vizsgálat igazolta, melyben az albuminnal kezelt csontdefektusok szignifikánsan magasabb teherbírást és keménységet értek el.

6. Összefoglalás

Munkám során a szérum albumin csont-, és lágyszövet regenerációt befolyásoló hatásaival foglalkoztam. Az ortopédiai lágyszövetek regenerációs jellegéből kifolyólag hasznos adjuváns lehet az őssejtterápia, mely kivitelezésére a szérum albuminnal bevont felszívódó varróanyag alkalmas lehet, hiszen a fehérje kedvező környezetet biztosít a sejtek kitapadásához, túléléséhez és proliferációjához. Technikailag kiemelendő, hogy nem bonyolítja a sebészeti technikát sem, mert olyan esetekben lenne használható, ahol egyébként is varrattal történik a sebészeti rekonstrukció. A csontszövet esetében megkérdőjelezhető azonban az őssejttranszplantáció szükségessége, mert mind a csontvelő, mind a periosteum könnyen aktivizálja a progenitor sejteket. Kritikus méretű csonthiányoknál ez mégsem elegendő, ezért szükséges különböző csontpótlók és csontosodást elősegítő anyagok használata. A szérum albumin (exogén sejtek bejuttatása nélkül) sikeresen javította az oszteokonduktív DBM csontpótló gyógyulását, mely mind radiológiailag, mind mechanikailag megfelelőnek bizonyult. A szérum albumin feltehetően rekrutáló és proliferatív hatást gyakorol az endogén progenitor sejtekre, ezért a gyógyulás gyulladásos fázisát követően magasabb számú sejt áll rendelkezésre a szöveti remodeláció beindítására. A molekula erős oszteoinduktivitása miatt így endogén őssejtek bevonásával végezhető őssejtterápia. A szérum albumin, hasznossága mellett, könnyen elérhető, tisztított jellegéből kifolyólag kiszámítható hatásokat eredményez. Nem kétséges, hogy létezhet olyan hatóanyag, vagy szövetépítési stratégia, mely jelen munkában leírtakat gyorsabban vagy eredményesebben képes megvalósítani, de azok széleskörű elterjedéséig a szérum albumin elérhetősége és megkérdőjelezhetetlen biokompatibilitása miatt fontos adjuvánsa lehet számos klinikai indikációnak.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények listája:

Denes B. Horvathy, Gabriella Vacz, Tamas Szabo, Imola C. Szigyarto, Ildiko Toro, Boglarka Vamos, Istvan Hornyak, Karoly Renner, Tamas Klara, Bence T. Szabo, Csaba Dobo-Nagy, Attila Doros, Zsombor Lacza **2015**. Serum albumin coating of demineralized bone matrix results in stronger new bone formation. *J Biomed Mater Res Part B* 2016 Jan;104(1):126-32. doi: 10.1002/jbm.b.33359. **IF: 2.881**

Horvathy, D.B., Vacz, G., Cselenyak, A., Weszl, M., Kiss, L., Lacza, Z., Albumin-Coated Bioactive Suture for Cell Transplantation. *Surg Innov.* 2013 Jun;20(3):249-55. doi: 10.1177/1553350612451353. **IF: 1.338**

Dénes B. Horváthy, Gabriella Vác, Tamás Szabó, Károly Renner, Kinga Vajda, Balázs Sándor and Zsombor Lacza *Communication: Absorption and Tensility of Bioactive Sutures Prepared for Cell Transplantation Materials* **2013**, 6(2), 544-550; doi:10.3390/ma6020544 **IF: 1.879**

Horváthy DB, Simon M, Schwarz CM, Masteling M, Vác G, Hornyák I, Lacza Z. Serum albumin as a local therapeutic agent in cell therapy and tissue engineering. *Biofactors*. 2016 Nov 11. doi: 10.1002/biof.1337. **IF:4.504**

Schandl K, **Horváthy DB**, Doros A, Majzik E, Schwarz CM, Csöngé L, Abkarovits G, Bucsi L, Lacza Z. Bone-Albumin filling decreases donor site morbidity and enhances bone formation after anterior cruciate ligament reconstruction with bone-patellar tendon-bone autografts. *Int Orthop*. 2016 Jun 29. DOI:10.1007/s00264-016-3246-8 **IF: 2.387**

Horvathy DB, Vacz G, Toro I, Szabo T, May Z, Duarte M, Hornyak I, Szabo BT, Dobo-Nagy C, Doros A, Lacza Z. **2015**. Remineralization of demineralized bone matrix in critical size cranial defects in rats: A 6-month follow-up study. *J Biomed Mater Res Part B* 2015;00B:000–000 **IF: 2.881**

Hornyák I, Madácsi E, Kalugyer P, Vác G, **Horváthy DB**, Szendrői M, Han W, Lacza Z. Increased release time of antibiotics from bone allografts through a novel biodegradable coating. *Biomed Res Int*. 2014;2014:459867. doi: 10.1155/2014/459867. **IF: 1.579**

D. B. Horvathy, P. P. Nardai, T. Major, K. Schandl, A. Cselenyak, G. Vacz, L. Kiss, M. Szendroi, Z. Lacza: Muscle regeneration is undisturbed by repeated polytraumatic injury, Accepted for publication in *Eur J Trauma Emerg Surg* on May 31, 2010 **IF: 0.328**

A disszertációtól független közlemények listája:

Vác G, Cselenyák A, Cserép Z, Benkő R, Kovács E, Pankotai E, Lindenmair A, Wolbank S, Schwarz CM, **Horváthy DB**, Kiss L, Hornyák I, Lacza Z. Effects of amniotic epithelial cell transplantation in endothelial injury. *Interv Med Appl Sci*. 2016 Dec;8(4):164-171. doi: 10.1556/1646.8.2016.4.6. **IF: 0**

Marianna Király, Kristóf Kádár, **Dénes B. Horváthy**, Péter Nardai, Gábor Z. Rác, Zsombor Lacza, Gábor Varga, Gábor Gerber: Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochem Int*. 2011 Sep;59(3):371-81. doi: 10.1016/j.neuint.2011.01.006. **IF: 2.857**

Horvathy DB, Hauck EF, Ogilvy CS, Hopkins LN , Levy EI, Siddiqui AH: Complete Preoperative Embolization of Hemangioblastoma Vessels with Onyx: Technical Note. Accepted for publication in *J Clin Neurosci* on June 14, 2010. **IF: 1.247**

Hauck EF, Natarajan SK, **Horvathy DB**, Hopkins LN , Siddiqui AH, Levy EI: Stent- assisted Basilar Reconstruction for a Traumatic Vertebral Dissection with a Large Basilar Artery Thrombosis. Accepted for publication in *J NeuroIntervent Surg* 2010 **IF: 0.923**

Xantus G, Kovacs A, **Horvathy DB**: Hiedelmek és Hagyományok a sebkezelésben *Háziorvos továbbképző szemle* 2008 **IF: 0**